نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷، ص. ۳۱۵-۲۹۹

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 16, No. 2, Summer. 2018, p. 299-315

بررسی تحمل به تنش یخ‌زدگی در گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graceum* L.)

سیده محبوبه میرمیران[۱]- احمد نظامی[۲*]- محمد کافی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۳۱

چکیده

دماهای پایین یکی از تنش‌های مهم غیرزنده می‌باشد که با تأثیر بر فرآیندهای حیاتی گیاه سبب اختلال در رشد آن می‌شود. به منظور بررسی تحمل به سرمای ۱۰ اکوتیپ شنبلیله (*Trigonella foenum-graceum* L.)، آزمایشی در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در محل گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل تاریخ کاشت در چهار سطح (۲۳ شهریور، ۲۳ مهر، ۱۵ اسفند و ۱۵ فروردین)، اکوتیپ در ۱۰ سطح (آذری، اردستان، پابلند، پاکوتاه، شیراز، شیروان، مشهد، نیشابور، همدان و هندی) و دماهای یخ‌زدگی در هفت سطح (۵+ (شاهد)، صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد) بودند. گیاهان در شرایط آب و هوایی طبیعی محیط رشد یافته و به سرما خو گرفتند، سپس گیاهان کشت شده در شهریور و مهر در اواسط دی و گیاهان کشت شده در اسفند و فروردین در اواسط اردیبهشت برای اعمال تنش سرما به فریزرترموگرادیان منتقل شدند. چهار هفته پس از اعمال تنش، درصد بقاء، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان براساس درصد بقاء (LT_{50su})، ارتفاع بوته، سطح برگ، دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ ($RLAT_{50}$)، وزن خشک و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) آنها تعیین شد. اکوتیپ‌ها به‌ترتیب در تاریخ‌های کاشت مهر و اسفند از بیشترین و کمترین درصد بقاء برخوردار بودند. گیاهان همه اکوتیپ‌ها (به جز اکوتیپ‌های آذری و اردستان در کاشت سوم) توانستند در هر چهار تاریخ کاشت کاهش دما تا ۹- درجه سانتی‌گراد را تحمل کنند. کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد نیز منجر به مرگ همه اکوتیپ‌ها به‌جز اکوتیپ‌های مشهد و نیشابور در کاشت شهریور شد. اکوتیپ‌های مشهد و نیشابور در کاشت‌های اول و دوم کمترین LT50su را داشتند، ولی در کاشت سوم و چهارم تفاوت معنی‌داری از این نظر بین اکوتیپ‌ها مشاهده نشد. اکوتیپ پاکوتاه به‌جز کاشت اسفند در کاشت‌های دیگر کمترین درصد کاهش ارتفاع (به‌ترتیب ۳۵، ۲۴ و ۳۳ درصد) را نسبت به شاهد به خود اختصاص داد. در کاشت مهرماه، دو اکوتیپ پابلند و نیشابور بیشترین و کمترین (به‌ترتیب ۸۹ و ۵۹ درصد) کاهش سطح برگ را نسبت به دمای شاهد داشتند. با کاهش دما به ۹- درجه سانتی‌گراد درصد وزن خشک گیاهان نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت و کمترین درصد کاهش وزن خشک در مقایسه با شاهد مربوط به گیاهان کاشت مهر بود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین $RLAT_{50}$ و $RDMT_{50}$ با دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان براساس درصد بقاء (به‌ترتیب $r=0/53^{**}$ و $r=0/64^{**}$) وجود داشت. در مجموع اکوتیپ‌های مشهد، نیشابور، شیروان و پاکوتاه از توانایی بقاء و رشد مجدد بهتری برخوردار بودند. به طوری که درصد بقاء در این اکوتیپ‌ها در حدود هشت درصد بیشتر از سایر اکوتیپ‌ها بود.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع بوته، تاریخ کاشت، تنش سرما، درصد بقاء، سطح برگ، وزن خشک

مقدمه

شنبلیله (*Trigonella foenum-graceum* L.) گیاهی علفی، یکساله و متعلق به خانواده بقولات است (Altuntas *et al.*, 2005). این گیاه به خاطر داشتن مواد با ارزشی مانند کلسیم، فسفر، آهن، کاروتن، ویتامین C و پروتئین در برگ‌های خود دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد (Ebubekie *et al.*, 2005; Nazar and Tinay, 2007). بذرهای این گیاه حاوی آلکالوئید، تریگونلین، کولین و ساپونین‌های استروئیدی می‌باشد و لذا در ردیف مهم‌ترین گیاهان دارویی جهان ذکر شده است (Omid baigi, 2004; Sandor and Kismanyoky, 2004). این گیاه همچنین به‌عنوان یک گیاه علوفه‌ای مناسب برای نشخوارکنندگان معرفی شده است که برخلاف یونجه در دام‌ها ایجاد نفخ نمی‌کند و علاوه بر این دارای ترکیبات استروئیدی افزایش‌دهنده رشد نیز می‌باشد (Mir *et al.*, 1996; Mir *et al.*, 1998). سابقه کاشت شنبلیله درایران بسیار طولانی است و عمدتاً اندام‌های هوایی گیاه به‌صورت تازه برداشت می‌شود (Najafpor Navaee, 1999; Omid baigi, 2004).

تصمیم‌گیری در مورد زمان کاشت مطلوب یک گیاه زراعی بسیار

۱- استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: Nezami@um.ac.ir
DOI: 10.22067/gsc.v16i2.50272

با اهمیت بوده و از عوامل مهم جهت کسب حداکثر عملکرد در گیاهان می‌باشد (Seghatoleslami and Ahmadi Bonakdar, 2010). تأخیر در زمان کاشت شنبلیله موجب کوتاه شدن طول دوره رشد گیاه و کاهش ماده خشک آن می‌شود، ضمن اینکه با تأخیر در کاشت مرحله گلدهی آن با گرما روبه‌رو شده (Seghatoleslami and Ahmadi Bonakdar, 2010) و عملکرد کاهش می‌یابد (Battacharya *et al*., 2006; Maletic and Jevdjovic, 2007). گیاهان زراعی پاییزه به دلیل فصل رشد طولانی‌تر و زیست توده بیشتر، غالباً دارای عملکرد بالاتر و با ثبات تر در مقایسه با محصولات بهاره می‌باشند (Cardona *et al*., 1997). با وجود این در مناطق معتدله کاشت گیاه در پاییز، موجب قرارگرفتن آن در معرض انواع تنش‌های زمستانه و به‌ویژه تنش یخزدگی خواهد شد. در این شرایط فعالیت‌های بیوسنتزی گیاه کاهش یافته و فرآیندهای فیزیولوژیکی آن مختل می‌شود و حتی در شرایطی ممکن است سرمای شدید سبب بروز صدمات غیر قابل برگشت و مرگ گیاه شود (Kafi and Damghani-Mahdavi, 2000; Mirmohamadi Meibodi and Tarkeshe Esfahani, 2004). به همین دلیل موفقیت کاشت پاییزه محصولات زراعی مستلزم وجود گیاهانی است که تحمل خوبی به دماهای پایین داشته باشند.

ارزیابی سریع و مؤثر تحمل گیاهان به تنش سرما مورد توجه محققان زیادی می‌باشد و پژوهش‌های متعددی برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و مؤثر انجام شده است تا بتوان تحمل به سرمای گیاهان را مشخص کرد (Anderson and Gesick, 2004). تعیین بقای گیاهان پس از قرار گرفتن در معرض تنش سرما در شرایط کنترل شده، از جمله روش‌های اندازه‌گیری تحمل به سرما در گیاهان به شمار می‌رود (Singh *et al*., 1994)، ضمن اینکه دمایی که سبب ۵۰ درصد مرگ گیاهان می‌شود، به‌عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50su})[1] ذکر شده است. نتایج مطالعه اثر تنش یخزدگی بر چند گونه گیاه دارویی تره تیزک آبی (*Hebe* sp.) نشان داد که با کاهش دما درصد بقای گونه‌های مورد مطالعه کاهش یافت، با وجود این کاهش درصد بقاء بسته به گونه متفاوت بود و گونه *H. cupressoides* درصد بقای بالاتری نسبت به گونه *H. albicans* داشت. همچنین گونه‌هایی که درصد بقای بالاتری بعد از اعمال تنش یخزدگی نشان دادند از LT_{50su} کمتری برخوردار بودند (Warrington and Southward, 1995).

نتایج بررسی دو گونه گوارا (*Guara* spp.) نشان داد که در گونه *G. Drummondii* درصد بقای گیاهان در دمای کمتر از ۶- درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد کلیه گیاهان نابود شدند در حالی‌که در گونه *G. coccinea* کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب از بین رفتن کلیه گیاهان شد (Grace *et al*., 2009). نیز گزارش کردند که در نخود (*Cicer arietinum* L.) گزارش شد که درصد بقاء تا دمای ۹- درجه سانتی‌گراد چندان تحت تأثیر قرار نگرفت، اما با کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد گیاهان از بین رفتند (Moshtaghi *et al*., 2009).

محققان تعیین رشد مجدد گیاه بعد از بروز تنش سرما را به‌عنوان یک شاخص تحمل به دمای پایین پیشنهاد کردند (Fry *et al*., 1993). در بررسی تحمل به یخزدگی چندین ژنوتیپ یونجه (*Medicago* spp.) و شبدر یکساله (*Trifolium* spp.) مشاهده شد که با کاهش دما، تولید ماده خشک گیاه در دوره بازیافت شدیداً کاهش یافت، به طوری‌که در گیاهانی که خوسرمایی نداشتند، در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاه شروع به کاهش کرد، در حالی‌که در گیاهان خوگرفته به سرما، کاهش وزن خشک در دمای ۷- درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد. آنها به این نتیجه رسیدند که گیاهانی که LT_{50} پایین‌تری داشتند، از تولید ماده خشک بیشتری پس از رشد مجدد برخوردار بودند (Hekneby *et al*., 2006). با مطالعه روی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) مشاهده شد که کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش ۷۷ درصدی ارتفاع بوته گردید و رشد مجدد گیاهان در طول دوره بازیافت معیار خوبی برای انتخاب اکوتیپ‌های زیره سبز مقاوم و حساس به سرما بود (Nezami *et al*., 2012).

در بررسی تحمل به سرمای چهار گونه شبدر تحت تأثیر دو تاریخ کاشت (۲۸ شهریور و ۲۷ مهر) مشاهده شد که هرچند در کاشت اول کاهش دما از صفر به ۱۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش سطح برگ در چهار گونه شبدر شد ولی این کاهش بسته به گونه متفاوت بود، به‌طوری‌که درصد کاهش سطح برگ در شرایط مذکور در گونه‌های قرمز (*T. pratense*) و ایرانی (*T. resupinatum*) به‌ترتیب ۹۸ و ۴۸ درصد بود و در این شرایط گونه‌های سفید (*T. repense*) و لاکی (*T. incarnatum*) از بین رفتند. در حالی‌که در کاشت دوم کاهش دما از صفر به ۱۵- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب منجر به کاهش ۶، ۳۳ و ۲ درصدی سطح برگ در گونه‌های قرمز، سفید و لاکی شد، ولی در گونه ایرانی حدود ۱۲ درصد افزایش سطح برگ را به دنبال داشت (Hazrati, 2014).

با توجه به این که اطلاعات منتشر شده چندانی درخصوص تحمل به سرمای گیاه شنبلیله در دسترس نیست، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تحمل به سرما در تعدادی از اکوتیپ‌های شنبلیله در شرایط کنترل‌شده اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت فاکتوریل و در

1- Lethal Temperature 50% of Plant According to the Survival Percentage

قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل چهار تاریخ کاشت (۲۳ شهریور، ۲۳ مهر، ۱۵ اسفند و ۱۵ فروردین)، ۱۰ اکوتیپ شنبلیله (آذری، اردستان، پابلند، پاکوتاه، شیراز، شیروان، مشهد، نیشابور، همدان و هندی) و هفت دمای یخزدگی (شاهد با دمای ۵+ (c)، صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد) بودند. در ابتدای آزمایش بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم سه درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی و سپس سه بار با آب مقطر شسته شدند. به منظور اطمینان از جوانه‌زنی یکنواخت بذرها، ابتدا بذرهای ضدعفونی شده در داخل پتری‌دیش و در دستگاه ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۵ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی جوانه‌دار شد. در بررسی تأثیر تاریخ کاشت و انجام خو گرفتن گیاهان به سرما ابتدا ۱۵ عدد بذر جوانه زده در عمق یک سانتی‌متری گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰سانتی‌متر و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متر حاوی ۲۵ درصد شن و ۷۵ درصد خاک مزرعه کشت شدند و پس از استقرار به ۱۰ بوته تنک شدند. در هر تاریخ کاشت برای هر اکوتیپ در هر تیمار دمایی سه گلدان و در مجموع ۲۱ گلدان در نظر گرفته شد. گیاهان در شرایط طبیعی و در فضای آزاد رشد یافته و در معرض خوسرمایی قرار داده شدند. در دوره خوسرمایی هنگامی‌که دما به کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد رسید، گیاهان با انتقال به شاسی سرد از سرمای شدید محافظت شدند. گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از اعمال تنش، آبیاری شدند و سپس برای اعمال دماهای یخزدگی، گیاهان دو تاریخ کاشت اول و دوم (که به‌ترتیب در مرحله ۷ برگی و ۵ برگی بودند) در اواسط دی و همزمان با بروز سرماهای شدید در منطقه (بر اساس داده‌های بلند مدت هواشناسی، در شرایط آب و هوایی مشهد بروز سرماهای شدید در دی و بهمن اتفاق می‌افتد) و گیاهان دو تاریخ کاشت بعدی (که به‌ترتیب در مرحله ۳ برگی و برگ لپه‌ای بودند) در اواسط اردیبهشت به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در ابتدای آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. این وضعیت شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به ندرت اتفاق می‌افتد، فراهم می‌کند (Murray *et al*., 1988). به منظور جلوگیری از پدیده فراسرد شدن و ایجاد هستک یخ در گیاهان (Lindow *et al*., 1982) در دمای ۲-درجه سانتی‌گراد محلول INAB[1] بر روی نمونه‌ها پاشیده شد. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه‌ها در هر تیمار دمایی به مدت یک ساعت نگه داشته و سپس به مدت ۲۴ ساعت در اتاقک سرد با دمای ۲±۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

در مرحله بعد نمونه‌ها به گلخانه با میانگین دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد (شب و روز) و فتوپریود ۱۴ ساعت منتقل شدند. چهار هفته پس از آن درصد بقاء و بازیافت نمونه‌ها ارزیابی شد. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق معادله (۱) محاسبه گردید.

معادله (۱) $AB^{-1}\times$۱۰۰= درصد بقاء

که در آن A و B به‌ترتیب تعداد بوته بعد و قبل از یخزدگی می‌باشد.

همزمان صفات دیگری نظیر ارتفاع، سطح برگ و وزن خشک گیاهان (پس از ۴۸ ساعت قرار داشتن در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد. مقادیر LT_{50su}، $RDMT_{50}$[2] و $RLAT_{50}$[3] نیز به‌ترتیب با استفاده از رسم نمودار داده‌های درصد بقاء، وزن خشک و سطح برگ نمونه‌ها در مقابل دماهای یخزدگی تعیین شدند.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای MINITAB17 و SAS9.1 انجام شد. مقایسه میانگین اثرات اصلی نیز با استفاده از آزمون LSD درسطح احتمال پنج درصد و خطای معیار (Standard Error) و در صورت معنی‌دار بودن اثرات متقابل برش‌دهی انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون lsmeans صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثرات متقابل اکوتیپ و دما بر بقای شنبلیله معنی‌دار ($p\leq0.05$) شد، هرچند با کاهش دما درصد بقاء کاهش یافت، اما واکنش اکوتیپ‌ها به شدت تنش یخزدگی متفاوت بود، به گونه‌ای که درصد بقا اکوتیپ‌های آذری و اردستان تا دمای ۶- درجه سانتی‌گراد مشابه با شاهد بود، ولی در سایر اکوتیپ‌ها این وضعیت تا دمای ۹- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول ۱). گیاهان چهار اکوتیپ پابلند، شیراز، همدان و هندی در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد کاملاً از بین رفتند، در حالی‌که در سایر اکوتیپ‌ها، مرگ کامل گیاهان در دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد. درصد بقاء دو اکوتیپ مشهد و نیشابور در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر اکوتیپ‌ها بود.

اثرات متقابل تاریخ کاشت، اکوتیپ و دمای یخزدگی بر درصد بقای گیاهان معنی‌داری ($p\leq0.05$) بود. در تاریخ کاشت سوم کاهش دما به ۹- درجه سانتی‌گراد سبب مرگ تمام گیاهان اکوتیپ‌های آذری و اردستان شد ولی در سایر تاریخ‌های کاشت اکوتیپ‌های مذکور در این دما کاملاً زنده بودند (شکل ۱). در تاریخ کاشت اول با کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد اغلب اکوتیپ‌ها کاملاً از بین رفتند و تنها اکوتیپ‌های نیشابور و مشهد درصد بقاء بسیار خوبی (به‌ترتیب ۱۰۰ و ۸۹ درصد) داشتند.

1- Ice nucleation active bacteria

2- Reduced Dry Matter Temperature 50

3- Reduced Leaf Area Temperature 50

جدول ۱- اثرات متقابل اکوتیپ و دمای یخزدگی بر درصد بقاء ارتفاع، سطح برگ و وزن خشک شنبلیله پس از اعمال تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل شده

Table 1– Interaction effects of ecotype and freezing temperature on survival percentage, height, leaf area and weight of fenugreek after freezing under controlled conditions

اکوتیپ Ecotype	دمای یخزدگی Freezing temperature (°C)	درصد بقاء Survival percentage	ارتفاع Height (cm)	سطح برگ تک بوته Leaf area (cm^2)	وزن خشک تک بوته Dry weight (mg)
آذری (Azari)	+5(c)	100±0a	19.6±3.8a	17.1±1.2a	75.5±15.2a
	0	100±0a	17.7±3.3b	15.2±1.2b	64.2±10.9b
	-3	100±0a	15.1±2.7c	12.9±1.1c	56.8±10.2c
	-6	100±0a	13.3±2.3d	10.8±0.8d	51.7±9.9d
	-9	75±13.1b	7.8±2.1e	6.6±1.3e	37.9±10.9e
	-12	10±5.2c	1.4±0.8f	1.2±0.6f	6.2±5.4f
	-15	0±0d	0.0±0g	0.0±0g	0.0±0g
اردستان (Ardestan)	+5(c)	100±0a	18.0±2.7a	20.7±2.4a	80.6±15.7a
	0	100±0a	17.0±2.5b	18.2±2.4b	77.3±15.6a
	-3	100±0a	13.8±1.9c	15.1±2.2c	73.4±15.5b
	-6	100±0a	11.9±1.6d	12.1±1.4d	61.9±12.0c
	-9	75±13.1b	9.2±1.8e	7.5±1.3e	35.6±10.1d
	-12	13±6.5c	1.7±0.9f	1.1±0.6f	6.9±4.7e
	-15	0±0d	0.0±0g	0.0±0g	0.0±0f
پابلند (Tall)	+5(c)	100±0a	12.6±1.6a	18.2±1.3a	80.4±14.7a
	0	100±0a	10.6±1.4b	16.0±0.9b	69.4±11.6b
	-3	100±0a	9.6±1.4c	13.8±0.7c	64.2±9.8c
	-6	100±0a	8.1±1.1d	12.1±0.7d	59.2±8.4d
	-9	100±0a	6.7±0.8e	9.0±0.8e	38.6±7.7e
	-12	0±0b	0.0±0f	0.4±0f	2.7±0f
	-15	0±0b	0.0±0f	0.0±0f	0.0±0g
پاکوتاه (Dwarf)	+5(c)	100±0a	10.5±1.4a	20.8±2.5a	91.8±15.7a
	0	100±0a	9.0±1.1b	18.9±2.2b	83.5±14.2b
	-3	100±0a	8.4±1.1bc	17.3±1.9c	77.8±13.1c
	-6	100±0a	6.8±0.8c	15.5±1.9d	69.2±11.1d
	-9	100±0a	5.8±0.8d	10.1±0.9e	49.3±7.2e
	-12	15±8.1b	1.0±0.5e	1.2±0.7f	10.0±5.5f
	-15	0±0c	0.0±0f	0.0±0g	0.0±0g
شیراز (Shiraz)	+5(c)	100±0a	19.3±2.3a	18.6±1.6a	71.4±15.9a
	0	100±0a	16.8±2.1b	16.6±1.6b	69.6±16.0a
	-3	100±0a	15.1±2.1c	14.2±1.5c	64.7±14.8b
	-6	100±0a	13.7±1.9d	11.4±1.4d	53.1±11.4c
	-9	100±0a	11.1±1.6e	9.3±1.1e	37.0±8.6d
	-12	0±0b	0.0±0f	0.0±0f	0.0±0e
	-15	0±0b	0.0±0f	0.0±0f	0.0±0e
شیروان (Shirvan)	+5(c)	100±0a	21.9±3.1a	25.6±2.4a	99.6±18.4a
	0	100±0a	19.4±2.8b	20.1±2.1b	90.4±18.7b
	-3	100±0a	16.5±2.5c	18.1±2.2c	80.8±16.6c
	-6	100±0a	13.7±2.1d	15.9±1.9d	75.8±15.7d
	-9	100±0a	11.1±1.6e	12.4±1.5e	50.2±6.8e
	-12	25±13.1b	1.0±0.5f	1.3±0.7f	8.5±4.6f
	-15	0±0c	0.0±0g	0.0±0g	0.0±0g
مشهد (Mashhad)	+5(c)	100±0a	20.9±2.9a	26.0±2.6a	99.0±16.9a

	0	100±0a	18.4±2.4b	21.6±1.9b	92.6±16.9b
	-3	100±0a	15.7±2.4c	18.5±1.9c	84.9±15.2c
	-6	100±0a	13.5±1.9d	16.9±1.8d	78.8±15.0d
	-9	100±0a	11.0±1.6e	13.4±1.6e	54.3±7.8e
	-12	47±14.5b	5.2±2.1f	3.1±0.9f	20.5±6.6f
	-15	0±0c	0.0±0g	0.0±0g	0.0±0g
نیشابور (Neyshabur)	+5(c)	100±0a	10.3±1.3a	21.9±1.6a	95.1±15.0a
	0	100±0a	8.6±1.2b	19.4±1.7b	92.5±14.7a
	-3	100±0a	8.0±1.2b	17.1±1.6c	83.9±13.5b
	-6	100±0a	6.6±0.9c	14.7±1.5d	79.0±12.9c
	-9	100±0a	5.3±0.9d	11.4±1.3e	59.0±8.6d
	-12	50±15.1b	3.1±1.2e	4.6±1.5f	20.9±7.2e
	-15	0±0c	0.0±0f	0.0±0g	0.0±0f
همدان (Hamedan)	+5(c)	100±0a	18.2±1.9a	19.8±1.4a	72.9±15.9a
	0	100±0a	16.5±1.6b	17.5±1.5b	63.1±12.9b
	-3	100±0a	14.3±1.3c	13.7±0.9c	55.7±11.2c
	-6	100±0a	12.1±1.2d	11.4±0.6d	50.1±9.6d
	-9	100±0a	8.8±1.1e	9.7±0.8e	40.4±5.6e
	-12	0±0b	0.0±0f	0.0±0f	0.0±0f
	-15	0±0b	0.0±0f	0.0±0f	0.0±0f
هندی (Hendi)	+5(c)	100±0a	18.0±2.4a	20.5±2.1a	76.0±15.7a
	0	100±0a	16.1±2.4b	16.9±2.1b	64.3±12.4b
	-3	100±0a	13.4±1.7c	14.7±2.1c	56.5±10.6c
	-6	100±0a	11.5±1.4d	13.8±2.2d	52.0±9.9d
	-9	100±0a	9.6±1.3e	9.7±1.9e	31.8±5.4e
	-12	0±0b	0.0±0f	0.0±0f	0.0±0f
	-15	0±0b	0.0±0f	0.0±0f	0.0±0f

میانگین‌هایی که در هر ستون برای هر اکوتیپ حداقل دارای یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. حروف نشان‌دهنده مقایسه میانگین‌ها به روش برش‌دهی می‌باشد.

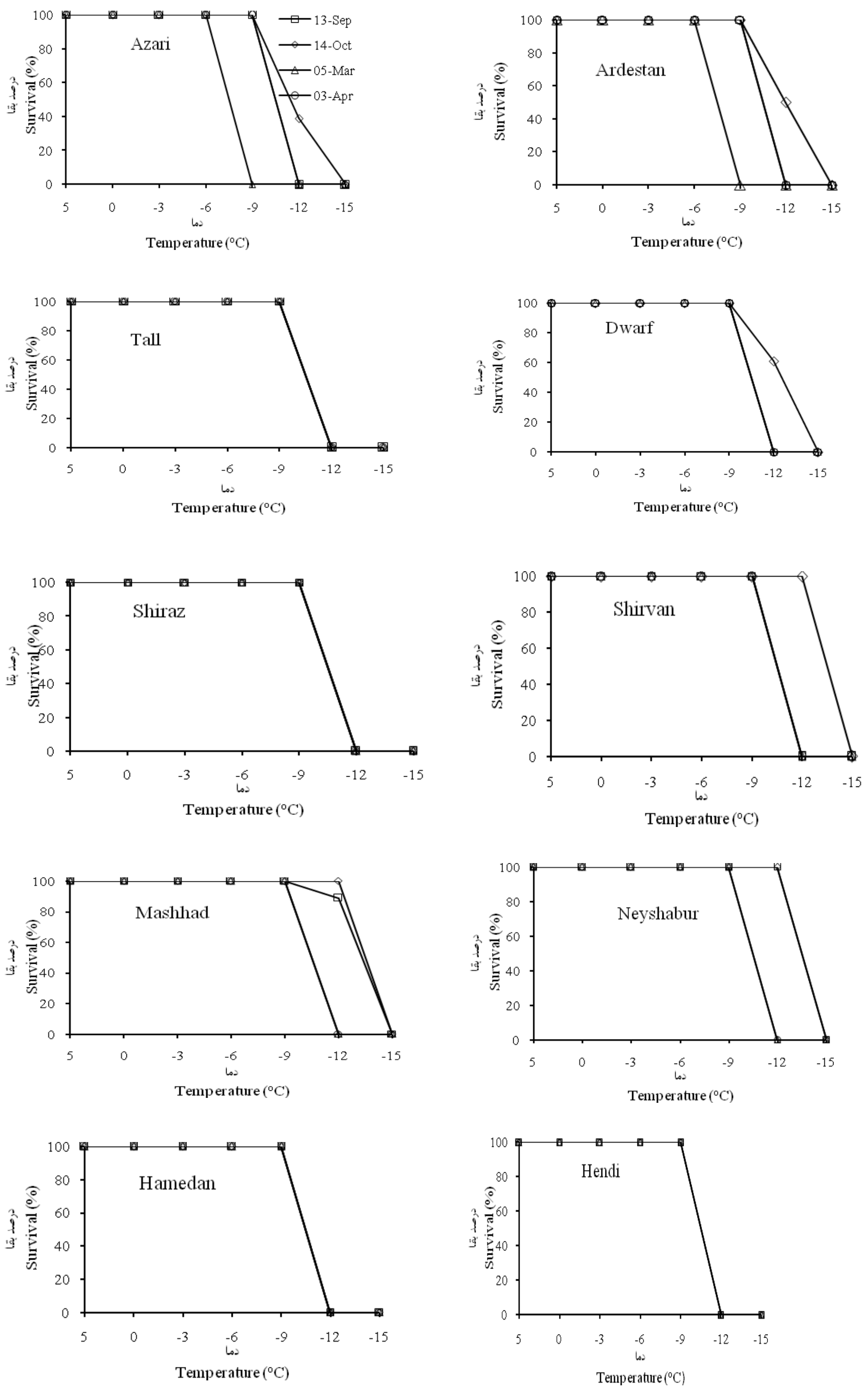
Within each column for each ecotypes, means fallowed by the same letter are not significantly different (p<0.05). The letters shows sliced mean comparisons.

کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد در کاشت دوم منجر به کاهش درصد بقاء در اکوتیپ‌های آذری، اردستان و پاکوتاه (به‌ترتیب ۶۱، ۵۰ و ۳۹ درصد نسبت به شاهد) شد و اکوتیپ‌های پابلند، شیراز، هندی و همدان از بین رفتند. با وجود این، سه اکوتیپ شیروان، مشهد و نیشابور در دمای مذکور دارای بالاترین درصد بقاء (۱۰۰ درصد) بودند. در کاشت‌های اسفند و فروردین نیز کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد منجر به از بین رفتن گیاهان تمام اکوتیپ‌ها شد (شکل ۱).

بررسی اثر تاریخ کاشت (۲۸ شهریور و ۳۰ مهر) بر روی چهار اکوتیپ سیر (*Allium sativum* L.) نشان داد که در تاریخ کاشت مهرماه اکوتیپ‌های نیشابور، خواف و بجنورد در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد دارای ۱۰۰ درصد بقاء بودند، در حالی‌که درصد بقاء اکوتیپ تربت حیدریه حدود ۷۸ درصد بود. همچنین در کاشت شهریور اعمال دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد مرگ ۲۰ درصد گیاهان اکوتیپ بجنورد را در پی داشت در حالی‌که سه اکوتیپ دیگر شدیداً آسیب دیده و یا کاملاً از بین رفتند (Pazireh, 2014).

اثرات متقابل تاریخ کاشت و اکوتیپ بر دمای ۵۰ درصد کشندگی براساس درصد بقاء معنی‌دار ($p\leq0.05$) بود. در کاشت شهریور دو اکوتیپ مشهد و نیشابور دارای کمترین LT_{50su} بودند، در حالی‌که از این نظر بین سایر اکوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با تغییر کاشت از شهریور به مهر در اکوتیپ‌های شیروان، پاکوتاه، اردستان، آذری و مشهد LT_{50su} به‌ترتیب ۳/۲، ۲، ۱/۵، ۰/۹ و ۰/۲ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت، اما در سایر اکوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین تغییر کاشت از شهریور به ۱۵ اسفند ماه منجر به افزایش LT_{50su} در اکوتیپ‌های آذری، اردستان، مشهد و نیشابور (به‌ترتیب ۳، ۳، ۲/۹ و ۳/۲ درجه سانتی‌گراد) شد، در حالی‌که در سایر اکوتیپ‌ها LT_{50su} مشابه با کاشت اول بود. در کاشت چهارم نیز هرچند از نظر LT_{50su} تفاوت معنی‌داری بین اکوتیپ‌ها مشاهده نشد، اما مقدار آن در دو اکوتیپ مشهد و نیشابور به‌ترتیب ۲/۹ و ۳/۲ درجه سانتی‌گراد نسبت به کاشت اول افزایش یافت (جدول ۲).

در مطالعه ۲۶ رقم گندم بین درصد بقاء و LT_{50su} گیاهان همبستگی معنی‌داری مشاهده شد ($r = ۰/۶۸^{**}$)، به‌طوری‌که با کاهش یک درجه‌ای LT_{50su}، بقاء به‌طور متوسط ۲۹ درصد افزایش داشت.



شکل ۱- اثرات متقابل تاریخ کاشت× اکوتیپ × دمای یخزدگی بر درصد بقای شنبلیله پس از اعمال تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل‌شده

Figure 1- Interaction effects of sowing date × ecotype × freezing temperature on survival percentage of fenugreek plant after freezing under controlled conditions

ارقام گندم نورستار و فوربید که در بین ارقام مورد مطالعه کمترین LT_{50su} را داشـتند، دارای بـالاترین بقـاء بودنـد (Skinner and Garland-Campbell, 2008). محققـان در بررسـی تحمـل بـه یخ‌زدگی نوعی یونجه یـک‌سـاله (*M. truncatula*) بـه ایـن نتیجـه رسیدند که زمانی‌که گیاهان قبل از فریـز از مرحلـه رشـدی بـالاتری برخوردار باشند بقای کمتری دارند. به عبارت دیگر تحمل به سـرما در گیاهان تحت تأثیر مرحله رشدی قـرار دارد و پیشـرفت رشـد گیـاه از مرحله رشد رویشی به سمت رشد زایشی سبب کاهش تحمل آنها بـه درجه حرارت‌های پایین می‌گردد. به‌طوری‌که رشد بیشـتر گیاهـان در تاریخ‌های کاشت زودتر عاملی برای بالاتر بودن LT_{50su} و حساسـیت بیشتر گیاهان به تنش یخ‌زدگی محسوب مـی‌شـود (Brandsater *et al.*, 2000). در این آزمایش با توجه به اینکه گیاهان کاشت شهریور (مرحله ۷ برگی) در مقایسه با کاشت مهر (مرحله ۵ برگی) و همچنین گیاهان کاشت اسفند (مرحله ۳ برگی) در مقایسه با کاشـت فـروردین (دارای برگ لپه‌ای)، در زمان اعمـال تـنش سـرما در مرحلـه رشـدی بالاتری قرار داشتند، تحمل کمتری به دماهای پـایین از خـود نشـان دادند و از LT_{50su} بالاتری برخوردار بودند (جدول ۲).

اثرات متقابل اکوتیپ و دما بر ارتفاع شنبلیله معنـی‌دار ($p \leq 0.05$) بود. هرچند کاهش دما از شاهد به ۹- درجـه سـانتی‌گـراد منجـر بـه کاهش ارتفاع در تمامی اکوتیپ‌ها شد، اما بیشترین کاهش در اکوتیپ آذری (۶۰ درصد) و کمترین آن در اکوتیپ شیراز (۴۰ درصد) مشاهده شد. اکوتیپ‌های شیروان و نیشابور در دمای ۱۲- درجـه سـانتی‌گـراد نسبت به دمای شاهد به‌ترتیب بیشترین و کمترین کاهش ارتفـاع (۹۵ و ۳۱ درصد) را داشتند، در حالی‌که اکوتیپ‌های پابلند، شیراز، همدان و هندی در شرایط مشابه از بین رفتند (جدول ۱).

نتایج بررسی بر روی گیـاه سـیاهدانه (*Nigella sativa* L.) نیـز نشان داد که در دو اکوتیپ گناباد و نیشابور بـا کـاهش دمـا بـه ۷/۵- درجه سانتی‌گراد به لحاظ ارتفاع تفاوت معنـی‌داری نسـبت بـه دمـای صفر مشاهده نشد در حالی‌که در اکوتیپ فردوس با کاهش دما ارتفاع گیاهـان کـاهش پیـدا کـرد (Khorsandi, 2013). در بررسـی اثـر دماهای یخ‌زدگی بر ژنوتیپ‌های یونجـه یـک‌سـاله *M. truncatula* مشاهده شد کـه بـا کـاهش دمـا از ۷- درجـه سـانتی‌گـراد از ارتفـاع ژنوتیپ‌ها کاسته شد ولی این کاهش در ژنوتیپ Jemalong-6 بیشـتر بود (Thapa *et al.*, 2008).

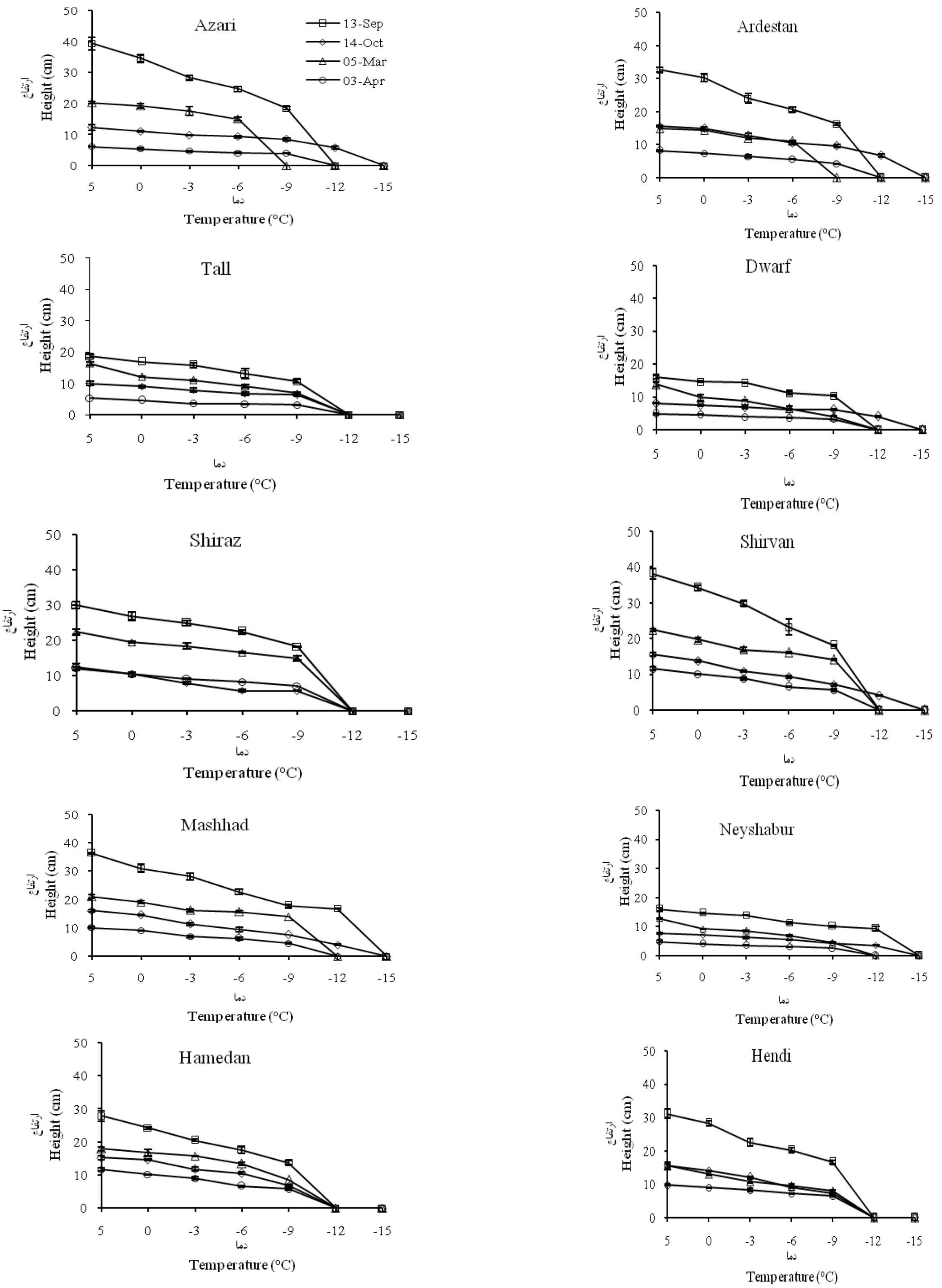
در تمام تاریخ‌های کاشت با کاهش دمـا ارتفـاع گیاهـان کـاهش یافت، اما این کاهش بسـته بـه اکوتیـپ متفـاوت بـود (شـکل ۲). در کاشت اول باکاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد دو اکوتیپ مشـهد و نیشابور به‌ترتیب ۵۴ و ۴۲ درصد کاهش ارتفاع نسبت به شاهد داشتند، اما در این وضعیت سایر اکوتیپ‌هـا از بـین رفتنـد. در کاشـت دوم در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد نیز اکوتیپ‌های پابلند، هنـدی، همـدان و شیراز از بین رفتند، اما اکوتیپ‌های مشهد و پاکوتـاه بـه‌ترتیـب دارای بیشترین (۷۵ درصد) و کمترین (۵۰ درصد) کاهش ارتفـاع نسـبت بـه دمای شاهد بودند (شکل ۲). اکوتیپ پاکوتاه در کاشت سوم با کـاهش دما از صفر به ۹- درجه سانتی‌گراد بیشترین کاهش (۷۱ درصد) ارتفاع را داشت. با وجـود ایـن در کاشـت‌هـای اول، دوم و چهـارم، اکوتیـپ پاکوتاه کمترین کاهش ارتفاع (بـه‌ترتیـب ۳۵، ۲۴ و ۳۳ درصـد) را در مقایسه با سایر اکوتیپ‌ها به خود اختصاص داد.

اثرات متقابل اکوتیپ و دمای یخ‌زدگی بـر سـطح بـرگ معنـی‌دار ($p \leq 0.05$) بود. با کاهش دما در تمام اکوتیپ‌ها این شـاخص کـاهش یافـت، ولـی در اکوتیـپ‌هـای آذری و اردسـتان در دمـای ۹- درجـه سانتی‌گراد نسبت به دمای شاهد ۶۱ و ۶۳ درصد کاهش سـطح بـرگ مشاهده شد، در صورتی‌که سایر اکوتیپ‌ها در شرایط مشابه حـدود ۵۰ درصد کاهش سطح برگ داشتند (جدول ۱).

با کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد نیز اکوتیپ‌های اردستان و شیروان به‌ترتیب بیشترین کـاهش سـطح بـرگ (۹۵ و ۹۴ درصـد) را نسبت به دمای شاهد داشتند، اما اکوتیپ نیشابور کمترین کاهش (۷۹ درصد) را در وضعیت مشابه داشت (جدول ۱).

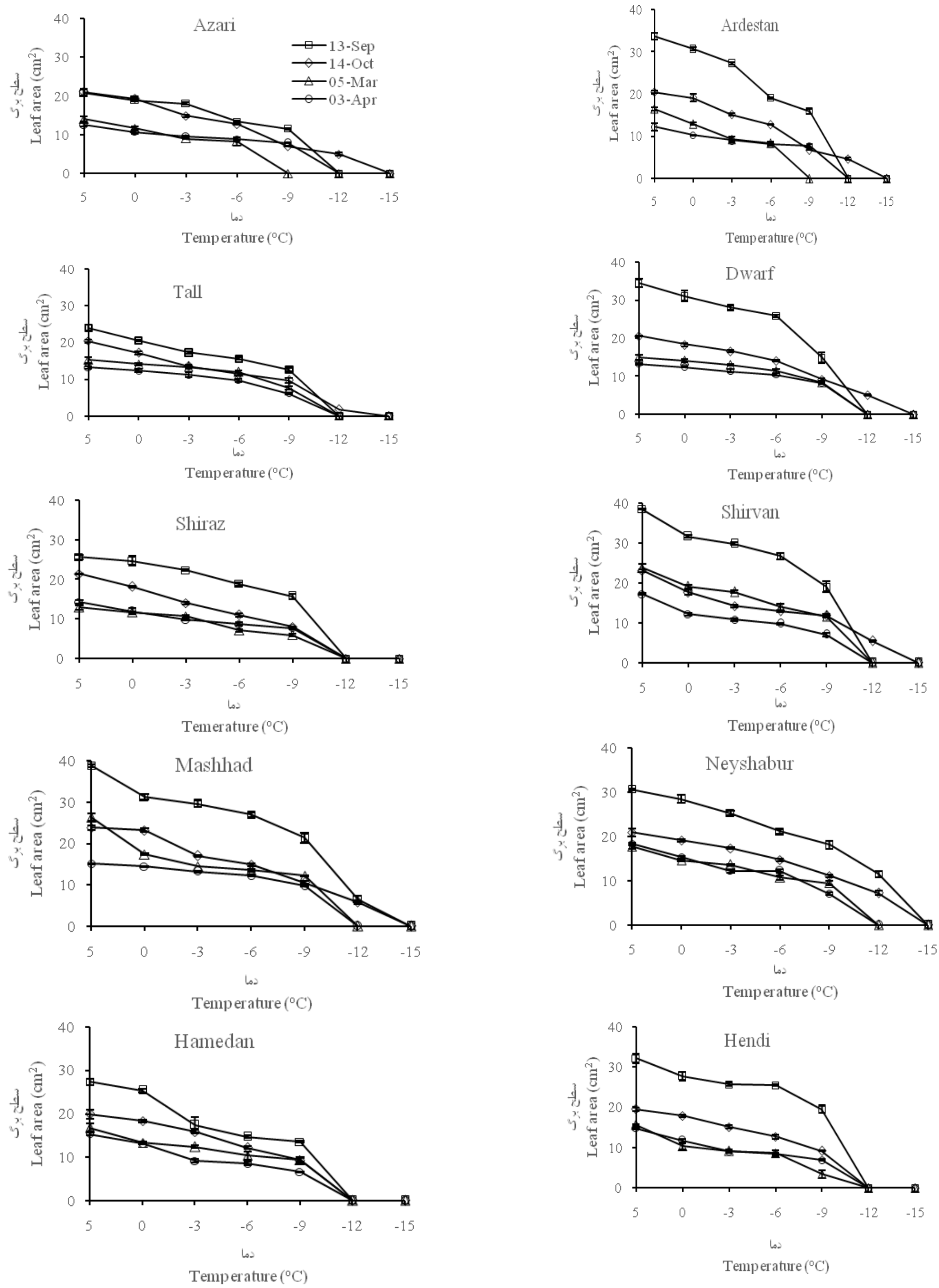
در مطالعه‌ای بر روی ارقام گندم (*Triticum aestivum*) کـه در معرض شش تیمار دمـایی (صـفر، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و ۲۰- درجـه سانتی‌گراد) قرار گرفتند، در دمـای ۱۶- درجـه سـانتی‌گـراد بیشـترین کاهش سطح برگ مربوط به رقـم MV-17 و بـه میـزان ۹۸ درصـد نسبت به دمای صـفر بـود (Azizi *et al.*, 2007). در بررسـی تاپـا و همکـاران (Thapa *et al.*, 2008) بـر روی یونجـه یـک‌سـاله *M. truncatula* و ارکولی و همکاران (Ercoli *et al.*, 2004) در بررسی سورگوم (*Sorghum bicolor*) نیز مشاهده شد که کاهش دما سـبب کاهش سطح برگ گیاهان شده است.

سطح برگ به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) تحت تأثیر تاریخ کاشت، اکوتیپ و دمای یخ‌زدگی قرار گرفت. در کاشت اول (۲۳ شـهریور) بـا کاهش دما به ۶- درجه سانتی‌گراد اکوتیـپ‌هـای آذری و همـدان در مقایسه با کاشت‌های دیگر کـاهش سـطح بـرگ بیشـتری (۶۵ و ۴۶ درصد) داشتند، در حالی‌که سـه اکوتیـپ شـیراز، شـیروان و هنـدی از کاهش سطح برگ کمتری (۲۴، ۳۱ و ۲۱ درصد) برخـوردار بودنـد. در کاشت دوم (۲۳ مهر) اکوتیپ‌های همدان، هنـدی و شـیراز در دمـای ۱۲- درجه سانتی‌گراد از بین رفتند، اما سایر اکوتیپ‌هـا زنـده بودنـد و دارای برگ بودند و اکوتیپ نیشابور بیشترین سطح برگ را در این دما داشت (شکل ۳).



شکل ۲- اثرات متقابل تاریخ کاشت× اکوتیپ×دمای یخزدگی بر ارتفاع شنبلیله پس از اعمال تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل‌شده
خطوط نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها می‌باشد.

Figure 2- Interaction effects of sowing date× ecotype × freezing temperature on height of fenugreek plant after freezing under controlled conditions. The bars indicate standard error (S.E.)



شکل ۳- اثرات متقابل تاریخ کاشت× اکوتیپ × دمای یخ‌زدگی بر سطح برگ شنبلیله پس از اعمال تنش یخ‌زدگی تحت شرایط کنترل‌شده
خطوط نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها می‌باشد.

Figure 3- Interaction effects of sowing date× ecotype × freezing temperature on leaf area of fenugreek plant after freezing under controlled conditions. The bars indicate standard error (S.E.)

اثرات متقابل تاریخ کاشت و اکوتیپ بر دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ معنی‌دار ($p\leq0.05$) بود. با تغییر کاشت از ۲۳ شهریور به ۲۳ مهر این شاخص در اکوتیپ‌های پابلند، پاکوتاه، شیروان، نیشابور و همدان کاهش و در اکوتیپ‌های اردستان، شیراز، مشهد و هندی افزایش یافت. بیشترین کاهش دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ مربوط به اکوتیپ پاکوتاه (۱/۶ درجه سانتی‌گراد) و کمترین افزایش آن متعلق به اکوتیپ‌های مشهد و هندی (۰/۴ درجه سانتی‌گراد) بود. در کاشت سوم نیز تمام اکوتیپ‌ها نسبت به کاشت اول و دوم از دمای کاهنده بیشتری برخوردار بودند. در حالی‌که در همین کاشت در اکوتیپ‌های شیروان، نیشابور و همدان $RLAT_{50}$ کمتر از کاشت چهارم بود، اما در سایر اکوتیپ‌ها با تغییر کاشت از ۱۵ اسفند به ۱۵ فروردین این شاخص کمتر شد (جدول ۳).

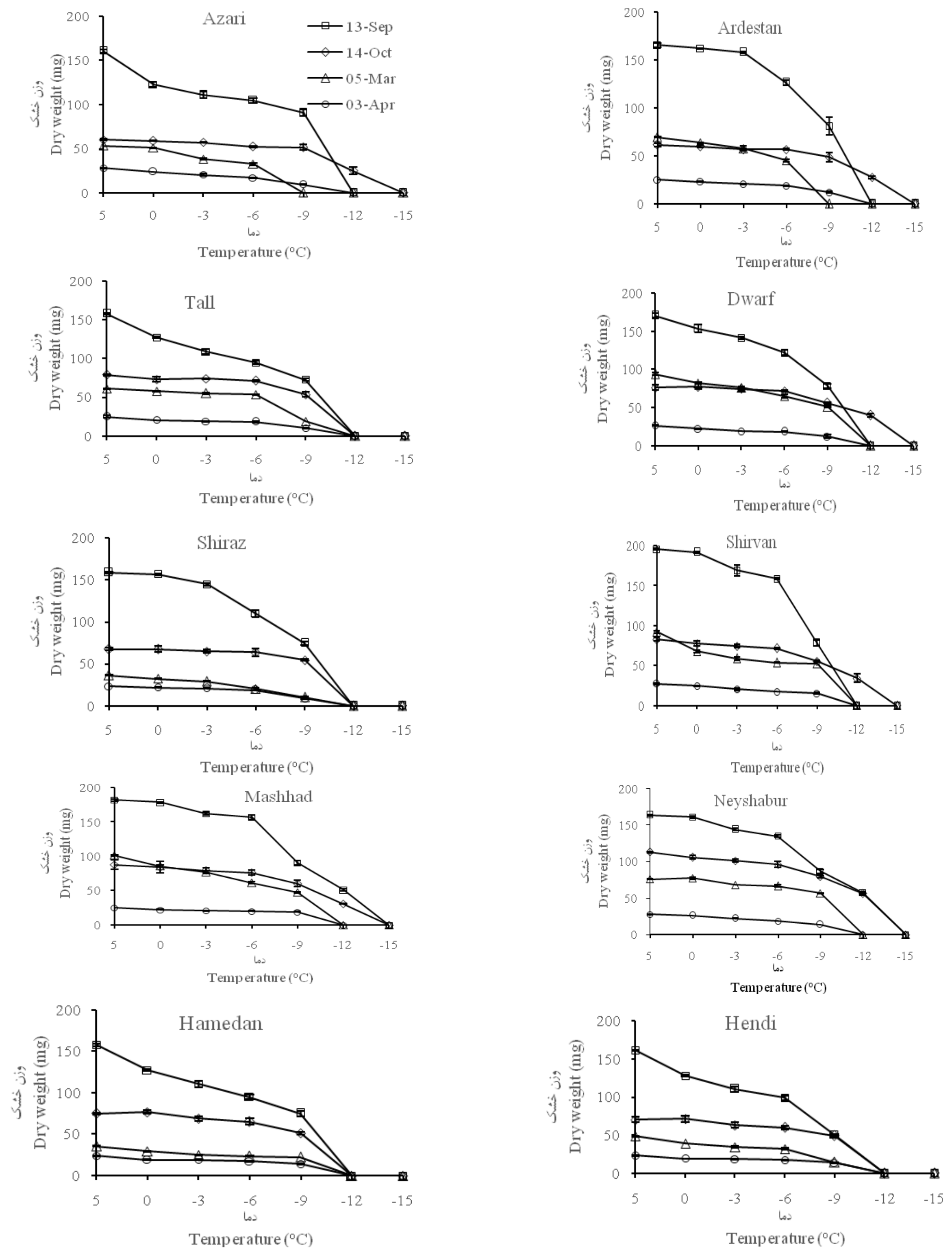
بین سطح برگ با درصد بقاء و ارتفاع بوته همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). بنابراین به نظر می‌رسد گیاهانی که قادر به بقاء در دماهای یخزدگی بوده‌اند، توانسته‌اند رشد مجدد مناسب‌تری (از نظر ارتفاع و سطح برگ) داشته باشند.

در بررسی اثرات متقابل اکوتیپ و دمای یخزدگی بر وزن خشک شنبلیله مشاهده شد که با کاهش دما به ۶- درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد کاهش وزن خشک نسبت به شاهد (۳۲ درصد) متعلق به دو اکوتیپ آذری و هندی است و کمترین آن (۱۷ درصد) مربوط به اکوتیپ نیشابور می‌باشد. با قرار گرفتن گیاهان در معرض دمای ۹- درجه سانتی‌گراد، اکوتیپ اردستان در مقایسه با سایر اکوتیپ‌ها کاهش وزن خشک بیشتری (۴۲ درصد) نسبت به شاهد داشت و کمترین کاهش وزن خشک نیز متعلق به اکوتیپ همدان بود (جدول ۱). در بررسی اثر تنش یخزدگی بر وزن خشک گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) مشاهده شد که وزن خشک گیاهان تا دمای ۶- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر تنش یخزدگی قرار نگرفت، اما با کاهش بیشتر دما وزن خشک نیز کاهش یافت به‌طوری‌که میزان وزن خشک گیاهان در دمای ۱۴- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۲۶ و ۷۸ درصد کمتر از تیمار شاهد بود (Javad Mousavi *et al.*, 2011). در بررسی تحمل به یخزدگی چندین ژنوتیپ یونجه و شبدر یکساله نیز مشاهده شد که با کاهش دما از ۱- تا ۱۳- درجه سانتی‌گراد ماده خشک گیاهان به‌طور معنی‌داری کاهش داشته است، اما شدت این کاهش در ژنوتیپ *M. truncatula* Gaertn. cv. Paraggio بیشتر از سایرین بود (Hekneby *et al.*, 2006).

اثرات متقابل تاریخ کاشت، اکوتیپ و دمای یخزدگی بر وزن خشک شنبلیله معنی‌داری ($p\leq0.05$) بود. در کاشت دوم در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد تمام اکوتیپ‌ها کاهش وزن خشک کمتری نسبت به دمای شاهد داشتند و گستره کاهش وزن خشک بین ۶ درصد (در اکوتیپ‌های پاکوتاه و شیراز) تا ۱۵ درصد (در اکوتیپ هندی) بود (شکل ۴). در این کاشت همچنین در دمای ۹- درجه اکوتیپ‌های آذری و شیراز کمترین وزن خشک (به‌ترتیب ۱۴ و ۱۹ درصد) را در مقایسه با دمای شاهد داشتند. در تاریخ کاشت اول علی‌رغم اینکه فقط دو اکوتیپ مشهد و نیشابور قادر به تحمل دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد بودند ولی وزن خشک آنها شدیداً کاهش یافت به‌طوری‌که به‌ترتیب ۷۲ و ۶۵ درصد نسبت به دمای شاهد کاهش وزن خشک داشتند (شکل ۴). در کاشت دوم کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش کمتری در وزن خشک اکوتیپ‌های آذری، اردستان، پاکوتاه و شیروان به‌ترتیب (۵۸، ۵۵، ۴۸ و ۵۹ درصد) نسبت به سایر اکوتیپ‌ها شد. محققان کاهش وزن خشک در دوره بازیافت را ناشی از اثر خسارت یخزدگی بر گیاه و کاهش توانایی رشد مجدد آن می‌دانستند (Azizi *et al.*, 2007).

اثرات متقابل تاریخ کاشت و اکوتیپ نیز بر دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) معنی‌دار ($p\leq0.05$) بود. در کاشت دوم کمترین میزان $RDMT_{50}$ متعلق به اکوتیپ پاکوتاه (۱۱/۹- درجه سانتی‌گراد) بود و بیشترین آن در اکوتیپ همدان (۹/۸- درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد (جدول ۲). با تأخیر در کاشت در کاشت‌های بهاره و پاییزه دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک در اکوتیپ‌ها کاهش یافت. به‌طوری‌که در کاشت دوم (مهرماه) نسبت به کاشت اول (شهریور) و در کاشت چهارم (فروردین) نسبت به کاشت سوم (اسفند) میزان دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک کمتر بود. در کاشت دوم تمامی اکوتیپ‌ها نسبت به سایر تاریخ‌های کاشت از میزان $RDMT_{50}$ بالاتری برخوردار بودند. به نظر می‌رسد زمانی‌که اکوتیپ‌ها در مراحل رشدی پایین‌تر در معرض تنش یخزدگی قرار می‌گیرند از تحمل به یخزدگی بالاتری برخوردارند و کاهش ۵۰ درصد وزن خشک در آنها در درجه حرارت‌های پایین‌تری اتفاق می‌افتد.

وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = ۰/۳^{*}$) با درصد بقاء داشت (جدول ۴). به عبارتی با افزایش درصد بقاء وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت پس از تنش نیز افزایش یافته است. وزن خشک گیاهان شنبلیله با ارتفاع و سطح برگ نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری (به‌ترتیب $r =۰/۷۴^{**}$ و $r=۰/۸۶^{**}$) داشت (جدول ۴). همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = ۰/۴^{**}$) بین LT_{50su} و $RDMT_{50}$ مشاهده شد. در آزمایشی بر روی ارقام چغندرقند نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r=۰/۸۳^{**}$) بین $RDMT_{50}$ با LT_{50su} وجود داشت (Nezami *et al.*, 2010). در مجموع تنش یخزدگی منجر به کاهش درصد بقاء و $RDMT_{50}$ در اکوتیپ‌های شنبلیله شد.



شکل ٤- اثرات متقابل تاریخ کاشت× اکوتیپ × دمای یخ‌زدگی بر وزن خشک شنبلیله پس از اعمال تنش یخ‌زدگی تحت شرایط کنترل‌شده خطوط نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها می‌باشد.

Figure 4- Interaction effects of sowing date× ecotype × freezing temperature on dry weight of fenugreek plant after freezing under controlled conditions. The bars indicate standard error (S.E.)

جدول ۲- اثرات متقابل تاریخ کاشت و اکوتیپ بر دمای ۵۰ درصد کشندگی گیاهان بر اساس درصد بقاء (LT_{50su}) در گیاه شنبلیله

Table 2- Interaction effects of sowing date and ecotype on LT_{50su} of fenugreek

Treatment تیمار	Sowing date تاریخ کاشت			
Ecotype اکوتیپ	13 September ۲۳ شهریور	14 October ۲۳ مهر	5 March ۱۵ اسفند	3 April ۱۵ فروردین
Azari آذری	-10.5±0a	-11.4±0.3b	-7.5±0a	-10.5±0a
Ardestan اردستان	-10.5±0a	-12.0±0c	-7.5±0a	-10.5±0a
Tall پابلند	-10.5±0a	-10.5±0a	-10.5±0b	-10.5±0a
Dwarf پاکوتاه	-10.5±0a	-12.5±0.3d	-10.5±0b	-10.5±0a
Shiraz شیراز	-10.5±0a	-10.5±0a	-10.5±0b	-10.5±0a
Shirvan شیروان	-10.5±0a	-13.7±0e	-10.5±0b	-10.5±0a
Mashhad مشهد	-13.4±0.3b	-13.7±0e	-10.5±0b	-10.5±0a
Neyshabur نیشابور	-13.7±0c	-13.7±0e	-10.5±0b	-10.5±0a
Hamedan همدان	-10.5±0a	-10.5±0a	-10.5±0b	-10.5±0a
Hendi هندی	-10.5±0a	-10.5±0a	-10.5±0b	-10.5±0a

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. حروف نشان‌دهنده مقایسه میانگین‌ها به روش برش‌دهی می‌باشد.

Within each column, means fallowed by the same letter are not significantly different (p<0.05). The letters shows sliced mean comparisons.

کاهش دما به کمتر از ۹- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش درصد بقاء و بازیافت گیاهان در اغلب اکوتیپ‌های شنبلیله شد. بر اساس شاخص LT_{50su} شنبلیله در کاشت‌های پاییزه و بهاره قادر به تحمل دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد بودند (به‌جز دو اکوتیپ آذری و اردستان در کاشت سوم). گیاهان کشت شده در ۲۳ مهرماه (کاشت دوم) از نظر LT_{50su} نسبت به سایر کاشت‌ها برتری داشتند، به‌طوری‌که در اغلب اکوتیپ‌ها (به‌جز اکوتیپ‌های پابلند، شیراز، همدان و هندی) LT_{50su} کمتر از ۱۱- درجه سانتی‌گراد بود و سه اکوتیپ شیروان، مشهد و نیشابور در این کاشت دارای LT_{50su} معادل ۱۳/۵- درجه سانتی‌گراد بودند. گیاهان کشت شده در ۲۳ مهر از نظر $RDMT_{50}$ هم نسبت به سایر کاشت‌ها برتری داشتند و در این کاشت کاهش دما تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک گیاه در پایان دوره بازیافت نسبت به گیاهان شاهد شد، در صورتی‌که در کاشت ۲۳ شهریور کاهش دما تا ۹- درجه سانتی‌گراد منجر به این وضعیت شد. از نظر این شاخص نیز اکوتیپ‌های شیروان، مشهد، نیشابور و پاکوتاه در هر دو کاشت بهاره و پاییزه رشد مجدد بهتری نسبت به سایر اکوتیپ‌ها داشتند، در صورتی‌که اکوتیپ‌های آذری و اردستان در کاشت پاییزه رشد مجدد بهتری نسبت به کاشت بهاره از خود نشان دادند.

نتیجه‌گیری

کاهش دما منجر به کاهش درصد بقاء و بازیافت در اکوتیپ‌های شنبلیله شد. در مجموع اکوتیپ‌های شیروان، مشهد، نیشابور و پاکوتاه از درصد بقاء و رشد مجدد بهتری نسبت به سایر اکوتیپ‌ها برخوردار بودند.

سپاسگزاری

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدین‌وسیله از آن معاونت سپاسگزاری می‌شود.

جدول ۳- اثرات متقابل تاریخ کاشت و اکوتیپ بر دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک در گیاه شنبلیله پس از پایان دوره بازیافت

Table 3- Interaction effects of sowing date and ecotype on $RDMT_{50}$ and $RLAT_{50}$ in fenugreek after recovery

Treatment تیمار	Sowing date تاریخ کاشت							
			$RDMT_{50}$			$RLAT_{50}$		
Ecotype اکوتیپ	13 September ۲۳ شهریور	14 October ۲۳ مهر	5 March ۱۵ اسفند	3 April ۱۵ فروردین	13September ۲۳ شهریور	14 Octoer ۲۳ مهر	5 March ۱۵ اسفند	3April ۱۵ فروردین
Azari آذری	-9.5±0.2c	-11.1±0.1bc	-6.8±0.1a	-7.7±0.4a	-9.3±0.2b	-9.3±0.2b	-6. 6±0.2a	-9.8±0c
Ardestan اردستان	-8.9±0.3abc	-11.5±0.2c	-6.8±0.1a	-9.1±0.2bc	-8.5±0.8a	-7.9±0.8a	-6.8±0a	-9.8±0.1c
Tall پابلند	-8.7±0.2ab	-10.1±0.2a	-8.1±0.1bc	-8.4±0.4b	-9.1±0.3b	-10.0±0.2c	-7.6±0.2b	-8.9±0.2b
Dwarf پاکوتاه	-8.6±0.2ab	-11.9±0.2c	-9.1±0.1cd	-8.8±0.7bc	-8.5±0.2a	-10.1±0.2c	-8.3±0.1bc	-9.9±0.1c
Shiraz شیراز	-8.7±0.1ab	-10.1±0.1a	-7.0±0.4ab	-8.3±0.1ab	-9.6±0.2b	-8.3±0.2a	-6.7±0.4a	-9.4±0.2bc
Shirvan شیروان	-8.3±0.1a	-11.3±0.6bc	-9.5±0.1d	-9.5±0.2c	-8.9±0.1ab	-9.3±0.6b	-8.9±0.1c	-8.3±0.2ab
Mashhad مشهد	-9.0±0.2abc	-10.9±0.2bc	-8.8±0.1c	-10.1±0.1c	-9.5±0.2b	-9.1±0.1b	-8.0±0.4bc	-9.7±0.1bc
Neyshabur نیشابور	-9.4±0.3c	-10.8±0.2b	-9.9±0.2d	-9.1±0.2c	-10.3±0.4c	-10.8±0.5c	-9.3±0.1c	-7.9±0.1a
Hamedan همدان	-8.8±0.4abc	-9.8±0a	-9.8±0.1d	-9.6±0.2c	-8.9±0.1ab	-9.4±0.1bc	-8.7±0.4c	-8.4±0.3ab
Hendi هندی	-9.2±0.1bc	-9.8±0.1a	-7.5±0.1b	-9.6±0.1c	-9.5±0.3b	-9.1±0.1b	-8.7±0.4c	-8.7±0.1ab

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. حروف نشان‌دهنده مقایسه میانگین‌ها به روش برش‌دهی می‌باشد.

Within each column, means fallowed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$). The letters shows sliced mean comparisons.

جدول ٤- ضرایب همبستگی پیرسون بین درصد بقاء، دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد بقاء، ارتفاع، سطح برگ، دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ، وزن خشک و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک شنبلیله

Table 4- Pearson correlation coefficients between survival%, LT_{50su}, height, leaf area, $RLAT_{50}$, Dry weight and $RDMT_{50}$ of fenugreek

	درصد بقاء Survival %	LT_{50su}	ارتفاع Height	سطح برگ Leaf area	$RLAT_{50}$	وزن خشک Dry weight
LT50su	-0.99^{**}					
ارتفاع Height	0.06^{ns}	-0.06^{ns}				
سطح برگ Leaf area	0.30^{*}	-0.30^{*}	0.76^{**}			
RLAT50	-0.53^{**}	0.53^{**}	0.06^{ns}	-0.10^{ns}		
وزن خشک Dry weight	0.34^{*}	-0.34^{*}	0.74^{**}	0.86^{**}	-0.24^{ns}	
RDMT50	-0.40^{**}	0.40^{**}	0.07^{ns}	0.02^{ns}	0.24^{ns}	-0.08^{ns}

ns، * و **: به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطوح پنج و یک درصد (۲۷۰= تعداد داده‌ها برای هر صفت)

ns, * and **: Non significant and Significant at 5 and 1 % probability levels, respectively (n=270)

References

1. Altuntas, E., Ozgoz, E., and Taser, O. F. 2005. Some physical properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) seeds. Journal of Food Engineering 71: 37-43.
2. Anderson, N. O., and Gesick, E. 2004. Phenotypic markers for selection of winter hardy garden chrysanthemums (*Dendranthema grandiflora* Tzvelv). Scientia Horticulturae 101: 153-167.
3. Azizi, H., Nezami, A., Nassiri, M., and Khazaie, H. R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 5: 109-121. (in Persian with English abstract).
4. Bhattacharya, M., Chatterjee, R., Pan, S., Sharangi, A. B., Pariari, A., and Chattopadhyay, P. K. 2006. Growth and yield of different cultivars of fenugreek (*Trigonella foenum-gracum* L.) as influenced by dates of sowing. Orissa Journal of Horticulture 34 (1): 69-71.
5. Brandsater L. O., Smeby T., Tronsmo A. M., and Netland J. 2000. Winter annual legumes for use as cover crops in row crops in northern regions: II. Frost resistance study. Crop Science 40: 175-181.
6. Cardona, C. A., Duncan, R. R., and Lindstrom, O. 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalum. Crop Science 37: 1283-1291.
7. Ebubekir, A., Engin, O., and Faruk, T. 2005. Some physical properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) seeds. Journal of Food Engineering 71: 37-43.
8. Ercoli, L., Mariotti, M., Masoni, A., and Arduini, I. 2004. Growth responses of sorghum plants to chilling temperature and duration of exposure. European Journal of Agronomy 21: 93-103.
9. Fry, J. D., Lang, N. S., Clifton, R. G. P., and Maier, F. P. 1993. Freezing tolerance and carbohydrate content of low temperature-acclimated and nonacclimated centipede grass. Journal of Crop Science 33: 1051-1055.
10. Grace, M., Pietsch, N., Anderson, O., and Li, P. H. 2009. Cold tolerance and short day acclimation perennial *Guara coccinea* and *G.drummondii*. Scienitica Horticulture 120: 418-425.
11. Hazrati, E. 2014. Evaluation of growth and physiological traits of clover (*Trifolium spp* L.) species affected by freezing stress under controlled conditions. MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (in Persian with English abstract).
12. Hekneby, M., Antolin, M. C., and Sanchez-Diaz, M. 2006. Frost resistance and *biochemical* changes during cold acclimation in different annual legumes. Environmental Experimental Botany 55: 305-314.
13. Javad Mousavi, M., Nezami, S., Izadi, E., Nezami, A., Yousef Sani, M., and Keykha Akhar, F. 2011. Evaluation of freezing tolerance of English daisy (*Bellis perennis)* under controlled conditions. Journal of Water and Soil 25 (2): 380-388. (in Persian with English abstract).
14. Kafi, M., and Damghani-Mahdavi, M. 2000. Resistance mechanisms of environmental stresses in plants. Ferdowsi University of Mashhad press. (in Persian).
15. Khorsandi, T. 2013. Evaluation of late spring cold tolerance in Black cumin (*Nigella sativa* L.) ecotypes under controlled conditions. MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (in Persian with English abstract).
16. Lindow, S. E., Arny, D. C., and Upper, C. D. 1982. Bacterial ice nucleation: A factor in frost injury to plants. Plant Physiology 70: 1084-1089.
17. Maletic, R., and Jevdjovic, R. 2007. Sowing date- the factor of yield and quality of fenugreek seed (*Trigonella foenum-gracum* L.). Journal of Agricultural Sciences, Belgrade 52 (1): 1-8.
18. Mir, Z., Acharya, S. N., Mir, P. S., Taylor, W. G., Zaman, S., Mears, G., and Goonewardene, L. A. 1996. Nutrient composition, in vitro gas production and digestibility of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and alfalfa forages. Canadian Journal of Animal Science 77: 119-124.
19. Mir, Z., Mir, P. S., Acharya, S. N., Zaman, M. S., Taylor, W. G., Mears, G. J., McAllister, T. A., and Goonewardene, L. A. 1998. Comparison of alfalfa and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) silages supplemented with barley grain on performance of growing steers. Canadian Journal of Animal Science 78: 343-349.
20. Mirmohamadi Meibodi, A., and Tarkeshe Esfahani, C. 2004. Aspects of Physiology and Breeding for Cold and Freezing in Crops. Golbon Publication, Isfahan, Iran 223 pp. (in Persian).
21. Moshtaghi, N., Bagheri, A. R., Nezami, A., and Moshtaghi, S. 2009. Investigation of betaine spray on freezing tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in controlled conditions. Iranian Journal. Field Crops Research 7: 647-656. (in Persian with English abstract).
22. Murray, G. A., Eser, D. L., Gusta, V., and Eteve, G. 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. In Summerfield R.J., (ed.) World crops: cool season food legumes. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. P: 831-843.
23. Najafpor Navaee, M. 1994. Issues on fenugreek. Research Institute of Forests and Rangelands Publication, No: 127. Pp: 18. (in Persian).
24. Nazar, A. N., and Tinay, A. H. 2007. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) protein concentration. Journal of Food Chemistry 103: 582-589.
25. Nezami, A., Hajmohammadnia- Ghalibaf, K., and Kamandi, A. 2010. Evaluation of freeze tolerance of sugarbeet

cultivars (*Beta vulgaris* L.) in controlled conditions. Environmental Stress in Crop Sciences 3 (2): 177-187. (in Persian).
26. Nezami, A., Sanjani, S., Soleimani, M. R., Nassiri-Mahallati, M., and Bannayan, M. 2012. Eavluation of freezing tolerance of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under controlled conditions. Journal of Agriculture- stiinta si practica 2: 75-84.
27. Omid baigi, R. 2004. Production and processing of medicinal plants. Astane Ghodse Razavi Publication. 149 (3): 397. (in Persian).
28. Pazireh, S. 2014. Evaluation of tolerance freezing traits and recovery of four garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes under semi-controlled conditions. MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (in Persian with English abstract).
29. Sandor, P., and Kismanyoky, A. 2004. Comparative test of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.). Journal of Central European Agriculture 4: 259-262.
30. Seghatoleslami, M. G., and Ahmadi Bonakdar, K. H. 2010.The effect of sowing date and plant density on yield and yield components of fenugreek (*Trigonella foenum-gracum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 26 (2): 265-274. (in Persian with English abstract).
31. Singh, K. B., Malhotra, R. S., Halila, M. H., Knights, E. J., and Verma, M. 1994. Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. Euphytica 73: 137-149.
32. Skinner, D. Z., and Garland-Campbell, K. A. 2008. The relationship of LT_{50} to prolonged freezing survival in winter wheat. Canadian Journal of Plant Science 88: 885-889.
33. Thapa, B., Arora, R., Knapp, A., and Brummer, E. C. 2008. Applying Freezing Test to Quantify Cold Acclimation in *Medicago truncatula*. Journal of American. Society. Horticultural Science 133 (5): 684-6.
34. Warrington, I. J., and Southward, R. C. 1995. Seasonal frost tolerance of *Hebe* species and cultivars. New Z.J. Crop Horticulture Science 23: 437-445.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 16, No. 2, Summer. 2018, p. 299-315

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷، ص. ۳۱۵-۲۹۹

Evaluation of Freezing Tolerance in Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.)

S. M. Mirmiran[1]- A. Nezami[2*]- M. Kafi[2]
Received: 01-10-2015
Accepted: 22-08-2017

Introduction

Plants grow well only within a specific temperature range. Getting out of this range is regarded as a stress. Low temperature is regarded as one of the important abiotic stress among the main factors threatening the growth of plants in temperate regions that causes disorder in the growth, development and operation of the plant by affecting some of vital processes of the plant. Environmental stresses especially cold stress affects the morphological and physiological features of the plant. Among these effects are damage to the cell membrane and change in its properties, reduction in photosynthesis and carbon dioxide efficiency, change in chlorophyll fluorescence characteristics, synthesis of chlorophyll and reducing the relative amount of water content. Since rapid and effective assessment of plant cold tolerance is important for researchers and also field trials have no regular process and have high error, different kinds of artificial freeze tests such as survival percentage test and regrowth after using stress has been developed.

Materials and Methods

In order to investigate the cold tolerance of Fenugreek, an investigation was done in factorial arrangement and in a completely random design in three replications in 2013-2014, in College of Agriculture in Ferdowsi University of Mashhad. The investigated factors include sowing date in four levels (September 13, October 14, March 5, and April 3), ecotype in 10 levels (Azari, Ardestan, Tall, Dwarf, Shiraz, Shirvan, Mashhad, Neishabur, Hamedan and Hendi) and freezing temperature in seven levels (control, 0, -3, -6, -9, -12, -15 °C). The plants grew in pots and cold acclimation in outside conditions then the plants which were planted in September and October as well as March and April. The pots were transferred to the freezer thermo gradient to apply the cold temperature in the middle of January and in the middle of May, respectively. Four weeks after applying the stress, survival percentage, Lethal Temperature 50% of Plant according to the Survival Percentage (LT_{50su}), height, leaf area, Reduced Leaf Area Temperature ($RLAT_{50}$), dry weight and Reduced Dry Matter Temperature 50 ($RDMT_{50}$) were measured.

Results and Discussion

All ecotypes (except for Azari and Ardestan ecotypes) in the third sowing date could tolerate lowering temperature to -9 °C in every four sowing date. Lowering temperature to -12 °C also led to the death of all ecotypes in March and April sowing dates, while in September sowing date despite the death of most Fenugreek ecotypes, both Neyshabur and Mashhad ecotypes could tolerate this temperature. Also, in October 14 sowing date, in Neyshabur, Mashhad and Shirvan ecotypes the survival percentage was high, but the survival percentage of Azari, Ardestan and Tall compared with the control treatment decreased 61, 50 and 39, respectively, and the other ecotypes were destroyed completely. Ecotypes of Mashhad and Neyshabur had the lowest LT_{50su} in the first and second sowing dates but in the third and fourth sowing date no significant differences was seen in this respect. In March 5 sowing date, after lowering temperature to -9 °C, the maximum percentage of decrease in height compared with control was in Dwarf ecotype (71 percent) and the minimum was seen in Shiraz (33 percent). In spite of this, Dwarf ecotype in the other sowing dates assigned to itself the lowest decrease percentage of height (respectively 35, 24 and 33 percent) and had a better ability to recovery. In every four sowing date lowering the temperature to -12 °C caused the total mortality of Hamedan, Hendi and Shiraz and they didn't have any leaf surface, but the response of the other ecotypes in October 14 sowing date was different. Two ecotypes Tall and Neyshabur having the highest (92 percent) and the lowest (66 percent) decrease in leaf surface compared with the control temperature were known as the most sensitive and the most tolerant ecotypes in this sowing date. In October 14 sowing date the response of the ecotypes to -6 °C compared with the other sowing date was better and the highest dry weight was associated with this date by lowering the temperature to -9 °C two ecotypes of Shirvan and Azari had the highest and the lowest decrease in dry weight (respectively 33

1- Department of Agronomy, Payame Noor University, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: Nezami@um.ac.ir)

and 14 percent) in the second sowing date.

Conclusions

Lowering the temperature to less than -9 °C causes a decrease in the plant survival percentage and recovering in most of the ecotypes of Fenugreek. In spite of this, percentage of the plant survival depending on the sowing date, so that in the second sowing date the percentage of survival was more than the other sowing dates and except for Shiraz, Hamedan and Hendi ecotypes, the other ecotypes were able to tolerate -12 °C. Ecotypes of Shirvan, Mashhad, Neyshabur and Dwarf under both of spring and fall sowing dates had a better regrowth than the other ecotypes, while Azari and Ardestan ecotypes under the fall sowing showed a better regrowth than spring sowing date. There was a significant correlation between RLAT50 and RDMT50 with LT_{50su} (r =0.53** and r = 0.64**, respectively), probably this subject shows the efficiency and the possibility of replacing each of these indexes in the investigation of the cold tolerance in Fenugreek. To sum up, the ecotypes of Mashhad, Neyshabur, Shirvan and Dwarf showed a better tolerance to freezing than the other ecotypes.

Keywords: Dry matter, Height, Cold stress, Leaf area, Sowing date, Survival percentage